

Device for automatically carrying out polymerase chain reactions

Patent number: EP0807467
Publication date: 1997-11-19
Inventor: BIRRER LUKAS (CH); MOSER ROLF (CH)
Applicant: HOFFMANN LA ROCHE (CH)
Classification:
- international: B01L7/00; B01L9/06; C12Q1/68
- european: B01L7/00D, B01L9/06
Application number: EP19970112702 19940831
Priority number(s): CH19930002717 19930910; EP19940113574 19940831

Also published as:

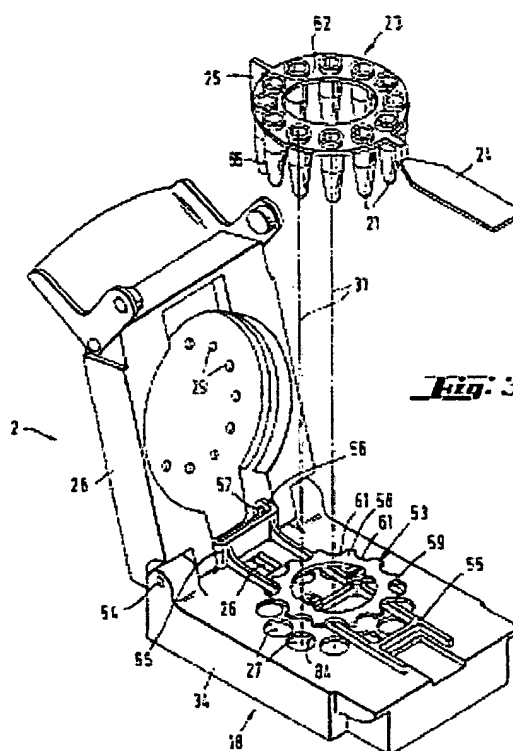
EP0807468 (A2)
EP0807468 (A3)
EP0807467 (A3)
EP0807468 (B1)
EP0807467 (B1)

Cited documents:

EP0488769
WO9220778
DE8804938U
DE3024210

Abstract of EP0807467

Apparatus to act as a thermal cycler for an automatic polymerase chain reaction with a number of chambers (27), has a circular array of the chambers (27) in the carrier (33), to take the reaction vessels (21). The carrier (3) is of a material with high thermal conductivity. Each reaction vessel (21) is closed by a cover (87). A computer control gives a cycled alteration to the carrier temperature.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 807 467 A2

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
19.11.1997 Patentblatt 1997/47

(51) Int. Cl.⁶: B01L 7/00, B01L 9/06,
C12Q 1/68

(21) Anmeldenummer: 97112702.2

(22) Anmeldetag: 31.08.1994

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL

(30) Priorität: 10.09.1993 CH 2717/93

(62) Dokumentnummer(n) der früheren Anmeldung(en)
nach Art. 76 EPÜ:
94113574.1 / 0 642 831

(71) Anmelder:
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
4070 Basel (CH)

(72) Erfinder:
• Moser, Rolf
6354 Vitznau (CH)
• Birrer, Lukas
6005 Luzern (CH)

(74) Vertreter:
Ventocilla, Abraham et al
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel (CH)

Bemerkungen:

This application was filed on 24 - 07 - 1997 as a
divisional application to the application mentioned
under INID code 62.

(54) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen

(57) Vorrichtung zur automatischen Durchführung
von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von
Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit
einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes
Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält,
welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

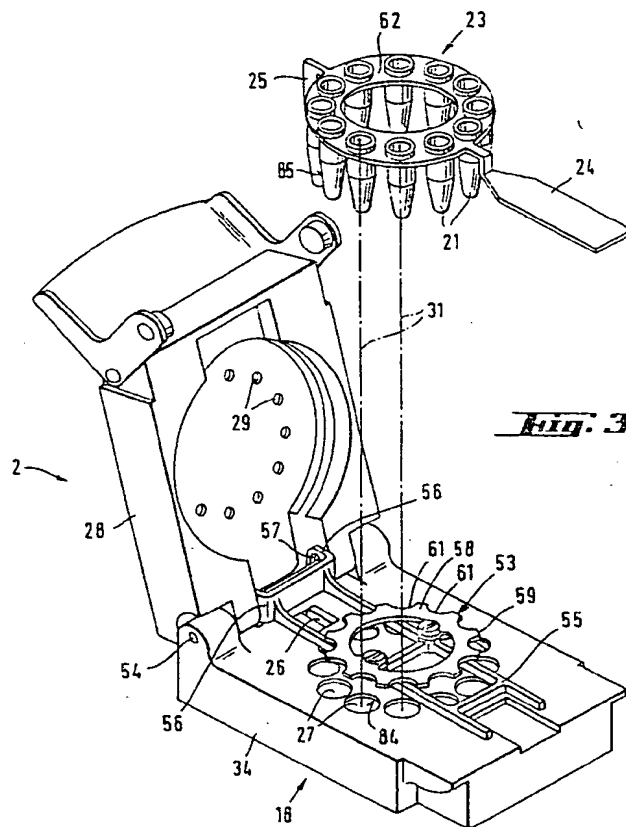
- a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kam-
mern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat
(21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den
unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzuneh-
men, und wobei der Träger (33) aus einem Material
besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit
hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Flä-
che und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei
jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öff-
nung hat, die in der oberen Fläche des Trägers
liegt,
- b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeord-
neten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Dek-
kel (87) verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regelein-
richtung, und
- d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteu-
erte Mittel zur zyklischen Aenderung der Tempera-
tur des Trägers.

Zur Erleichterung der Entfernung der Reaktionsbe-
hälter aus den Kammern des Trägers ist die Vorrichtung

dadurch gekennzeichnet, dass

- (i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33)
ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhal-
ten der verschlossenen, im Träger (33) angeordne-
ten Reaktionsbehälter (21) enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der
Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den
Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aus-
hebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an
einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren
Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei
ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit
der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33)
konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befe-
stigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von
Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der
Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) die-
nen.

EP 0 807 467 A2



Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

- a) einen Träger, der eine Anordnung von Kammern zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat, wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer des Trägers eine Oeffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) in den Kammern des Trägers angeordneten Reaktionsbehälter, die je mit einem Deckel verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- d) die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers.

Die Erfindung betrifft insbesondere eine Vorrichtung dieser Art, die vorzugsweise als integrierter Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaction ("Polymerase-Chain-Reaction") geeignet ist.

Eine Vorrichtung der oben erwähnten Art ist in der EP-A-0 488 769 A2 beschrieben.

Eine Vorrichtung der oben erwähnten Art ist auch in der EP-A- 0 236 069 A2 beschrieben, in der ausserdem darauf hingewiesen wird, dass Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur eines Trägers der oben erwähnten Art ein Peltier-Element enthalten können.

Vorrichtungen der eingangs genannten Art werden "Thermal cycler" genannt. Diese Bezeichnung wird in der nachstehenden Beschreibung verwendet.

Die in der EP-A- 0 488 769 A2 und in der EP-A- 0 236 069 A2 beschriebenen Vorrichtungen haben den Nachteil, dass durch die Temperatur-Änderungen und die auf die Reaktionsbehälter wirkenden Druck die Außenwände der Reaktionsbehälter an den Wänden der Kammer des Trägers haften. Die dadurch erwirkte kraftschlüssige Verbindung erschwert das Entfernen der Reaktionsbehälter aus dem Trägers.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde eine Vorrichtung der eingangs erwähnten Art zur Verfügung zu stellen, mit welcher der oben erwähnte Nachteil behoben werden kann.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäss mit einer Vorrichtung der eingangs genannten Art gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass

- (i) die Anordnung der Kammer im Träger ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel zum Festhalten der verschlossenen, im Träger angeordneten Reaktionsbehälter enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter aus den Kammern im Träger enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel, der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter aus den Kammern dienen.

Die erfindungsgemässe Vorrichtung erleichtert die Entfernung der Reaktionsbehälter aus den Kammern des Trägers nach Durchführung der Polymerase-Kettenreaktionen.

Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemässen Vorrichtung ist, dass sie den oben erwähnten Nachteil der bekannten Vorrichtungen dieser Art auf möglichst einfache Weise und mit geringem Aufwand behebt.

Beschreibung eines Ausführungsbeispiels

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird im folgenden anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben. Es zeigen:

- Fig. 1 einen aus einem Analysengerät herausgenommenen Thermalcycluser-Teil 2, der Thermalcycluser 18 und 19 enthält, wobei der Thermalcycluser 18 geöffnet und einen daraus entnommenen Proberöhrchenring 23 gezeigt wird,
- Fig. 2 einen Schnitt durch die Linie II- II in Fig. 1, wobei der Thermalcycluser 18 geschlossen ist,
- Fig. 3 eine perspektivische Ansicht des Thermalcyclusers 18 gemäss Fig. 1, welcher durch eine Aushebevorrichtung 53 ergänzt ist,
- Fig. 4 einen gegenüber Fig. 2 vergrösserten Schnitt durch den Thermalcycluser im geschlossenen Zustand,
- Fig. 5 einen Thermalcycluser gemäss Fig. 4 im geöffneten Zustand,
- Fig. 6 eine schematische Darstellung einer "Master-Slave"-Steuerung zur Regelung und Ueberwachung der Betriebsparameter eines Thermalcyclusers,
- Fig. 7 ein Temperatur-Zeit-Diagramm eines im

Master-Prozessor gespeicherten Temperaturverlaufes bzw. die daraus resultierenden Temperaturen des Thermoblocks und der Probe.

Thermalcycler

In der nachstehenden Beschreibung wird mit Thermalcycler eine Vorrichtung bezeichnet, die zur automatischen Durchführung von Temperaturzyklen in wenigstens einem mit einem Deckel geschlossenen Proberöhrchen 21 dient, das ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält.

Nachstehend wird ein Thermalcycler beschrieben, der vorzugsweise als Bestandteil eines automatischen Analysengerätes zur Durchführung der Polymerase-Kettenreaction geeignet ist. Das Analysengerät ist beispielsweise zur Durchführung von Immunoassays ausgelegt.

In Fig. 1 ist ein Thermalcycler-Teil 2 aus einem Analysengerät 1 ausgebaut dargestellt. Dieser Thermalcycler-Teil 2 enthält z.B. zwei identische Thermalcycler 18, 19 und eine Stand-by Position 22. Die nachstehende Beschreibung des Thermalcycler 18 gilt auch für den Thermalcycler 19.

Der Thermalcycler 18 enthält folgende Komponenten:

- a) einen Thermoblock 33, der als Träger der Proberöhrchen dient, und der eine ringförmige Anordnung von Ausnehmungen 27 hat, wobei jede Ausnehmung als Kammer zur Aufnahme des unteren Teils eines der Proberöhrchen 21 dient,
- b) eine in Fig. 6 dargestellte computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- c) durch diese Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Heiz- bzw. Kühlelemente als Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Thermoblocks 33.

Der Thermoblock 33 besteht aus einem Material, das eine hohe thermische Leitfähigkeit hat. Der Thermoblock 33 ist vorzugsweise ein Körper aus Aluminium oder Silber. Der Thermoblock 33 hat eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand, wobei jede der Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt.

Wie in Figuren 1 und 3 dargestellt, sind z.B. zwölf Proberöhrchen 21 zu einem Proberöhrchenring 23 zusammengefasst. Die Proberöhrchen 21 sind im unteren Bereich konisch, im oberen Bereich zylindrisch geformt und durch einen Deckel 87 dicht verschlossen. Wie in Fig. 1 und 3 gut zu erkennen ist, kann eine derartige Proberöhrchenanordnung 23 in entsprechende Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 des Thermalcyclers 18 eingesetzt werden.

Zugriff zum Inhalt eines Proberöhrchens

Der Thermalcycler 18 hat einen klappbaren Deckel 28, der pro Ausnehmung 27 des Thermoblocks 33 eine Öffnung 29 aufweist, die ein Durchstechen des Verschlusses 87 des in der Ausnehmung eingesetzten Proberöhrchens 21 mit einer Pipettiernadel ermöglicht. Wie aus Fig. 2 ersichtlich, fluchtet bei geschlossener Stellung des Klappdeckels 28 jede der Öffnungen 29 mit der Längsachse 31 des entsprechenden Proberöhrchens 21.

Die Öffnungen 29 des Klappdeckels 28 ermöglichen den Zugriff zum Inhalt jedes Proberöhrchens bei geschlossenem Klappdeckel 28. Dafür wird die Pipettiernadel 32 einer (in Figur 3 nicht dargestellten) Pipettiereinrichtung durch eine der Öffnungen 29 eingeführt, der Deckel 87 des Proberöhrchens 21 mit der Pipettiernadel 32 durchgestochen und anschließend ein bestimmtes Volumen der im Proberöhrchen enthaltenen Flüssigkeit abgesaugt.

Wärmeübertragung zwischen Thermoblock und Proberöhrchen

Es ist aus Fig. 2 ersichtlich, dass die Ausnehmungen 27 im Thermoblock 33 an den konischen Bereich der Proberöhrchen 21 angepasst sind, sodass die Umfangswandung des Proberöhrchens 21 zuverlässig an die Innenwandung der Ausnehmung 27, zwecks bester Wärmeübertragung, zur Anlage kommen kann. Um die thermische Reaktionsgeschwindigkeit, Präzision und Homogenität zu erhöhen, ist der Thermoblock 33 möglichst wärmeisoliert in einem Gehäuse 34 gehalten und weist wenig Masse bei guter thermischer Leitfähigkeit auf.

Heizelement im klappbaren Deckel des Thermalcyclers

Der Deckel 28 enthält vorzugsweise ein Heizelement, z.B. eine elektrische Widerstandsheizung 52, die zum Beheizen der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen dient.

In einer ersten Ausführungsform des Thermalcyclers wird die elektrische Widerstandsheizung 52 in Kombination mit einem nachstehend beschriebenen Peltier-Element 36 verwendet, um ein gewünschtes Temperaturprofil (Temperaturverlauf über ein bestimmtes Zeitintervall) im Thermoblock 33 zu erzielen. In dieser Ausführungsform wird das Peltier-Element je nach der zu erreichenden Temperatur innerhalb eines Temperaturprofils als Kühl- oder als Heizelement verwendet.

Die Zusammenwirkung der elektrischen Widerstandsheizung 52 mit dem Peltier-Element 36 ermöglicht, die erforderliche Schnelligkeit der Temperaturänderungen des Thermoblocks 33 sowie die erforderliche Präzision und Homogenität der Temperaturverteilung zu erreichen. Durch die Wirkung der Widerstandsheizung 52 wird ausserdem eine etwaige

Kondensatbildung im Deckelbereich des Proberöhrchens 21 vermieden.

Verschliess- und Anpresseeinrichtung des Klappdeckels des Thermalcyclers

Der Klappdeckel 28 enthält vorzugsweise eine Verschliess- und Anpresseeinrichtung zum Festhalten der verschlossenen, im Thermoblock 33 angeordneten Proberöhrchen 21. Hierfür weist der Klappdeckel 28 eine federnd gehaltene Andruckplatte 46 auf, welche jeden Proberöhrchen 21 mit einer definierten Kraft in die Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 hineindrückt. Ausnehmungen 47 zur Aufnahme der kalottenförmigen Deckel 87 der Proberöhrchen 21 sowie Durchstichöffnungen 48 für die Pipettirnadel 32 sind koaxial zu den Proberöhrchen 21 in der Andruckplatte 46 vorgesehen. Als Federelement kann eine Wellscheibe 49 vorgesehen sein. Durch einen Sicherungsring 51 ist die Andruckplatte 46 bei geöffnetem Klappdeckel 28 gegen Herausfallen gesichert.

Die oben erwähnte Widerstandsheizung 52 ist vorzugsweise in der federnden Andruckplatte 46 enthalten.

Peltier-Element als Kühl- oder Heizelement

Wie in Fig. 2 dargestellt, enthält ein Thermalcyclus 18 vorzugsweise wenigstens ein Peltier-Element 36 als Teil der im Thermalcyclus 18 vorgesehenen Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Thermoblocks 33. Das Peltier-Element 36 ist mit seiner einen Wärmeübergangsfläche 37 grossflächig mit der unteren Fläche des Thermoblocks 33 und mit seiner anderen Wärmeübergangsfläche 38 grossflächig an einen Kühlkörper 39 zur Wärmeabfuhr thermisch in Kontakt gebracht. Der Kühlkörper 39 ist vorzugsweise aus Aluminium oder Kupfer. Zur Wärmeabfuhr ist ein schaltbarer Ventilator 45 vorgesehen.

Das in Fig. 2 schematisch dargestellte Peltier-Element 36 ist vorzugsweise eine Anordnung solcher Elemente.

In der oben erwähnten ersten Ausführungsform des Thermalcyclers wird das Peltier-Element 36 als Kühl- oder als Heizelement verwendet. Diese Betriebsweise des Peltier-Elementes 36 und seine Zusammenwirkung mit der elektrischen Widerstandsheizung 52 ermöglicht, die erforderliche Temperatur des Thermoblocks innerhalb eines Temperaturprofils zu erreichen.

Zur Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes 36 ist dieser vor thermodynamisch begründeten mechanischen Spannungsspitzen vorzugsweise dadurch geschützt, dass das Peltier-Element 36 durch eine zentrale, federvorgespannte Befestigung gegen den Thermoblock 33 gepresst gehalten wird. Hierfür wird das Peltier-Element elastisch zwischen den Wärmeübertragungsflächen des Thermoblocks 33 und des Kühlkörpers 39 eingespannt. Dafür wird der Kühlkörper 39 z.B. mittels einer Druckfeder 41 mit seiner Kontaktfläche gegen das Peltier-Element 36 gedrückt. Die

Federspannung kann über eine Einstellschraube 42, Federteller 43 und ein Kugelgelenk 44 eingestellt werden, welches die Freiheitsgrade des Kühlkörpers 39 noch weiter erhöht.

Peltier-Element ausschliesslich als Kühlelement

In einer Variante des hier beschriebenen Ausführungsbeispiels wird das Peltier-Element 36 ausschliesslich als kälteerzeugendes Element, d.h. nur als Kühlelement verwendet. Dadurch wird eine Verlängerung der Lebensdauer des Peltier-Elementes erreicht.

Zusätzliches Heizelement um den Thermoblock

In einer zweiten Ausführungsform des Thermalcyclers enthält dieser vorzugsweise zusätzlich eine elektrische Widerstandsheizung 35, die um den Thermoblock 33 und entlang des Umfangs seiner zylindrischen, äusseren Wand angeordnet ist. Bei Verwendung dieses zusätzlichen Heizelementes im Thermalcyclus wird das Peltier-Element 36 nur zum Kühlen verwendet. Dies bringt den Vorteil einer Entlastung des Peltier-Elements von thermisch bedingtem mechanischem Stress und trägt dadurch dazu bei die Lebensdauer des Peltier-Elements im Thermalcyclus zu verlängern.

Aushebevorrichtung

Durch die Temperatur-Aenderungen und der Wirkung der Feder 49 haften die konischen Bereiche der Proberöhrchen 21 an den Wänden der Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33. Die dadurch erwirkte kraftschlüssige Verbindung erschwert das Entfernen der Proberöhrchen 21 aus dem Thermalcyclus 2. Aus diesem Grunde wurde in der Ausführungsform gemäss Fig. 3 bis 5 eine Aushebevorrichtung 53 vorgeschlagen, welche die Entnahme des Proberöhrchenringes 23 aus dem Thermoblock 33 erheblich erleichtert.

Wie aus Figuren 3-5 ersichtlich enthält die Aushebevorrichtung 53 eine Wippe 55, die als Auswurfhebel dient. Die Wippe 55 ist an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels 28 verbunden. Die Wippe 55 ist am anderen Ende frei. Die Aushebevorrichtung 53 enthält ferner eine Auswurfscheibe 58, die mit der Rotationssymmetrieachse des Thermoblocks 33 konzentrisch ist, auf dem die Wippe 55 angeordnet ist. Die Auswurfscheibe 58 hat an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen 61, die zur Entnahme des Proberöhrchenringes 23 aus den Ausnehmungen 27 des Thermoblocks 33 dienen.

Wie aus Fig. 3 ersichtlich, wird die Wippe 55 auf der Drehachse 54 des Klappdeckels 28 geführt. Drehachseseitig weist die Wippe 55 zwei Laschen 56 mit Ausnehmungen 57 auf, in welche die Drehachse 54 eingreift. Die Auswurfscheibe ist auf die Wippe 55 aufgeschraubt. Die Auswurfscheibe 58 weist an seinem peripheren Rand 59 halbkreisförmige Ausnehmungen 61 auf, welche projektionsgenau mit den Ausnehmungen

gen 27 im Thermoblock 33, bzw. den zylindrischen Bereichen der Proberöhrchen 21 fluchten, welche in die Ausnehmungen 27 eingesetzt sind (Fig. 5). Der periphere Rand 59 der Auswurfscheibe 58 untergreift somit den inneren flanschartigen Bereich 62 des Proberöhrchenringes 23 bzw. die Flansche der Proberöhrchen 21. Die Gestalt und Funktion der Ausnehmung 57 in den Laschen 56 der Wippe 55 im Zusammenhang mit der Drehachse 54 des Klappdeckels 28 sowie eines am Klappdeckel 28 in einem Abstand e angebrachten Steuerstiftes 63, welcher ebenso in die Ausnehmung 57 eingreift, ist aus Figuren 4 und 5 ersichtlich. Bei geschlossenem Klappdeckel 28 ist die Aushebevorrichtung 53 noch funktionslos. Beim öffnen des Klappdeckels 28 gerät der Stift 63 ab einem gewissen Öffnungswinkel in Kontakt mit einer Steuerfläche 64 der Ausnehmung 57 und bewirkt ein Verschwenken der Wippe 55 um den Punkt P, was ein Ausheben der Probenbehälter 21 zur Folge hat. Durch die Kippbewegung der Wippe 55 um den Punkt P bzw. durch die zunehmende Schrägstellung der Auswurfscheibe 58 wird bewirkt, dass sich die den einzelnen Proberöhrchen 21 zugeordneten Losbrechkräfte zeitlich versetzt manifestieren, so dass die Proberöhrchen 21 nach und nach aus ihren Ausnehmungen 27 gelöst werden. Der Kraftaufwand und die Materialbeanspruchung wird dadurch auf niedrigem Niveau gehalten und der Bedienungskomfort erhöht.

Steuerung und Regelung des Thermalcyclers

Eine Steuer- und Regeleinrichtung des Thermalcyclers 18 über Master-Slave-Prozessoren 72, 73 ist in Fig. 6 schematisch dargestellt.

Die Temperatur der Andruckplatte 46 des Klappdeckels 28, des Thermoblocks 33 und der Umgebung wird mittels Temperaturfühler 65, 66, 67 erfasst und über ein Temperatur-Interface 68 dem Slave-Prozessor 73 zugeführt. Im Master-Prozessor 72 (Schnittstelle zum Benutzer) werden unter anderem die Temperatursollwerte, die Zeitsollwerte, die Anzahl der Temperaturzyklen und die Geschwindigkeit der Heiz- und Kühlvorgänge eingegeben.

Es können bereits vorbestimmte, gespeicherte Temperatur/Zeitprofile gewählt und abgefahren werden. Die Eingabe erfolgt über die Tastatur 16 oder eine andere Schnittstelle. Diese Daten werden dem Slave-Prozessor 73 zugeführt, welcher über Regler 69 einen Leistungssteller 71 ansteuert, welcher wiederum die Energieversorgung der Heizelemente 35, 52 und des Peltier-Elements 36 regelt. Die Rückmeldungen (Ist-Werte) werden über den Slave-Prozessor 73 dem Master-Prozessor 72 zugeführt und dort verarbeitet bzw. dem Benutzer angezeigt. Auf diese Weise wird der Benutzer über die momentane Proben temperatur, die bereits erreichten Temperaturen mit Zeitangabe und die noch zu erreichenden Temperaturen mit Zeitangabe informiert.

Der Betriebszustand des Systems wird ständig

überwacht und protokolliert. Fehler, die nicht vom System selbst behoben werden können, bewirken eine automatische Abschaltung oder Fehlermeldung.

Die Temperatur der Probe wird aus der Temperatur des Thermoblocks 33 rechnerisch ermittelt. Dazu wird die Übertragungsfunktion vom Probenraum zur Probe im Proberöhrchen 21 bestimmt. Diese Funktion ist im wesentlichen ein Tiefpass mit Totzeit.

Anhand geeigneter Regelalgorithmen (abgetastete Systeme) wird jeweils die Stellgröße berechnet, die nötig ist, um die Temperatur der Probe der vorgegebenen Sollwerttemperatur nachzuführen. Diese Berechnungen werden mit einem Signalprozessor durchgeführt. Die berechnete Stellgröße wird in Form einer Pulsweite dem Leistungssteller 71 zugeführt. Der Leistungssteller 71 ist z.B. ein Leistungs-FET mit einer dazu passenden Schutz- und Entstörschaltung.

Die oben beschriebene Steuerung und Regelung ermöglicht den Einsatz des Thermalcyclers um Proben in einem im Thermalcyclers eingesetzten Probenöhrchenring nach bestimmten Temperaturprofilen zu heizen und zu kühlen. Die Temperaturprofile sind definiert durch Plateau-Temperaturen definierter Dauer, und der Gradient, der die Zeit definiert, bei der eine Plateau-Temperatur erreicht sein muss. Bedingung ist, dass alle Proben im Thermalcycler zur gleichen Zeit die gleichen Temperaturen haben.

In Fig. 7 sind beispielsweise Temperaturverläufe aus einem Zyklusprozess aufgezeigt. Kurve A zeigt den Temperaturverlauf am Thermoblock 33, die Kurve B zeigt den Temperaturverlauf der Flüssigkeit im Reaktionsbehälter 21. Mit dem Thermalcycler können Temperaturen zwischen 40 und 98 Grad Celsius eingestellt werden. Typischerweise liegen die unteren Temperaturen zwischen 50 und 60 Grad Celsius und die oberen Temperaturen zwischen 90 und 96 Grad Celsius. Wenn die mittlere Temperatur benutzt wird, liegt sie um 72 Grad Celsius. Die mit dem Thermalcycler erzielte Heiz-/Kühl-Geschwindigkeit beträgt 1 Grad Celsius pro Sekunde. Ein typischer Zyklus hat eine Dauer von 120 Sekunden. Wenn die entsprechende Temperaturen länger als 10 Sekunden gehalten werden müssen, verlängert sich die Zyklusdauer entsprechend.

Patentansprüche

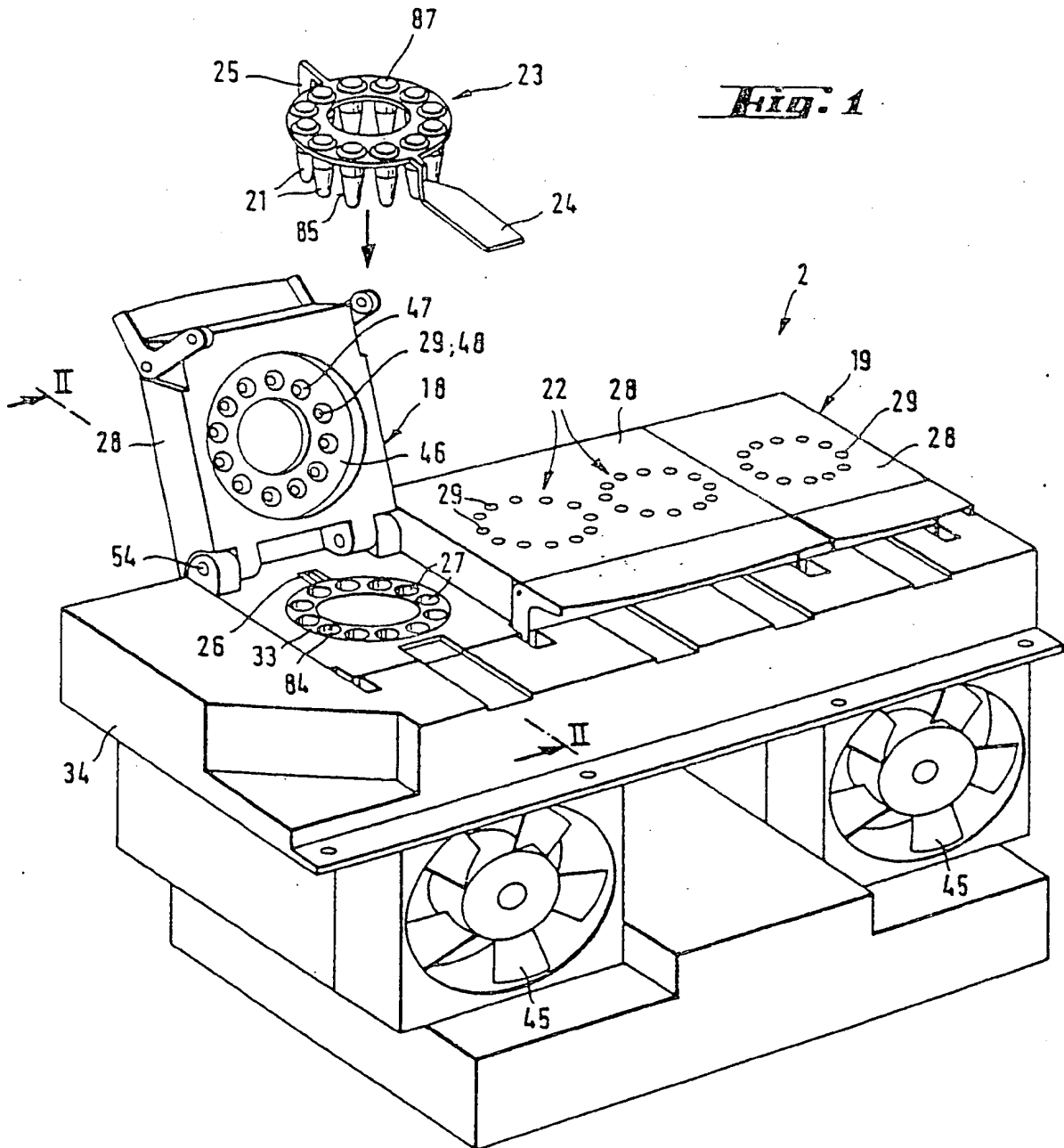
1. Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

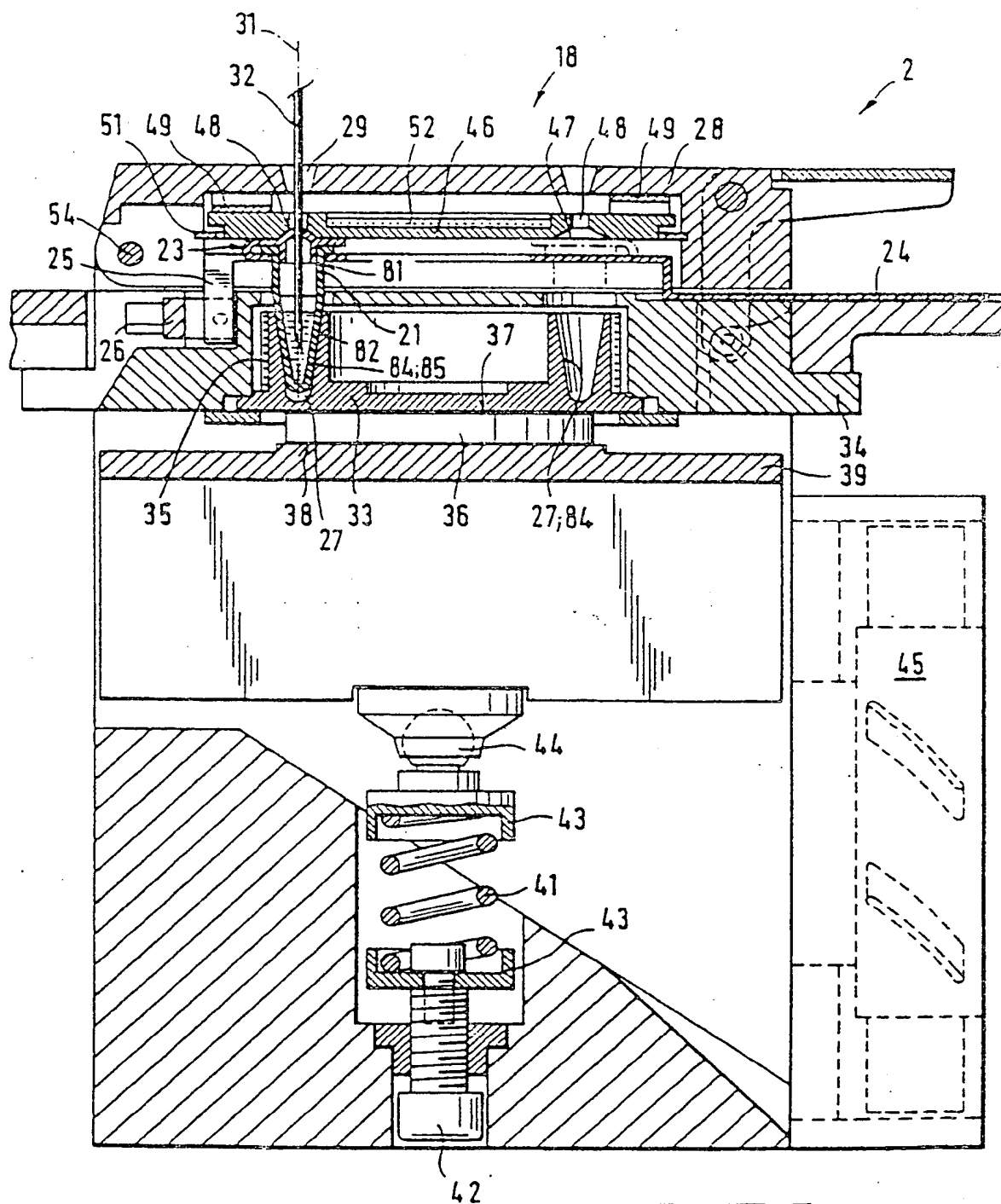
a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kammern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat (21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger

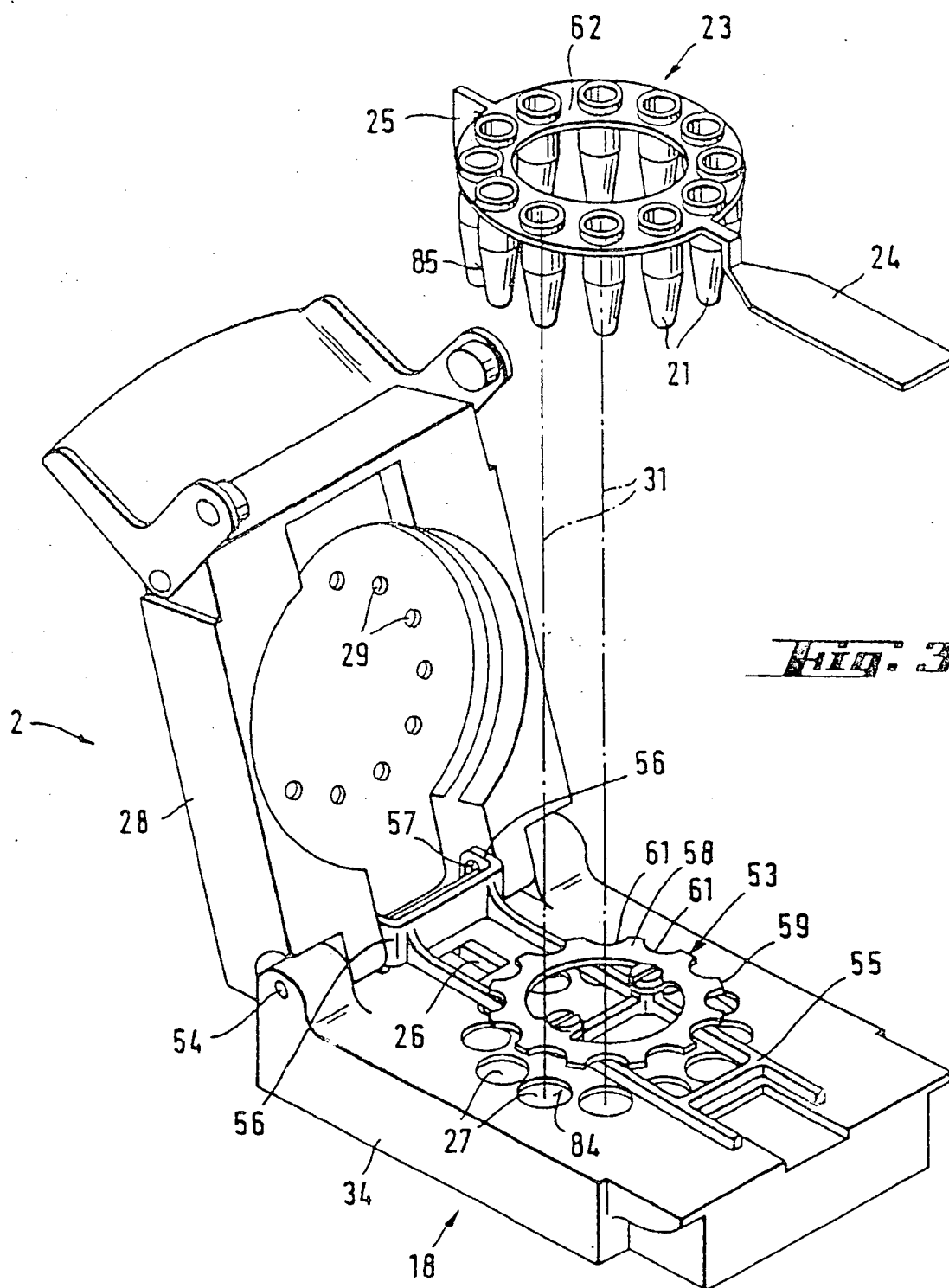
(33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt, b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Deckel (87) verschlossen sind, c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Änderung der Temperatur des Trägers,

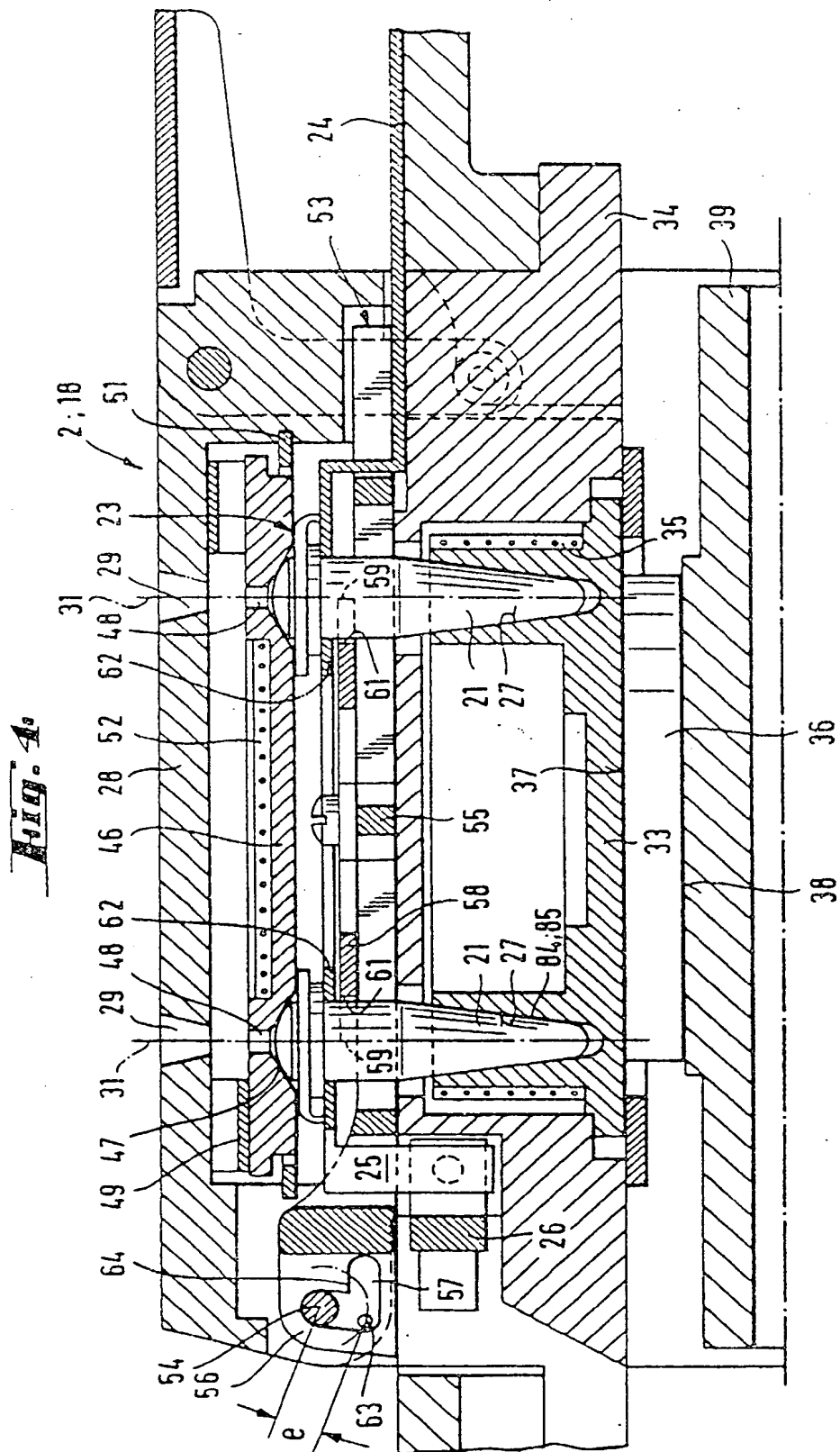
welche Vorrichtung dadurch gekennzeichnet ist, dass

- (i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21) enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) dienen.









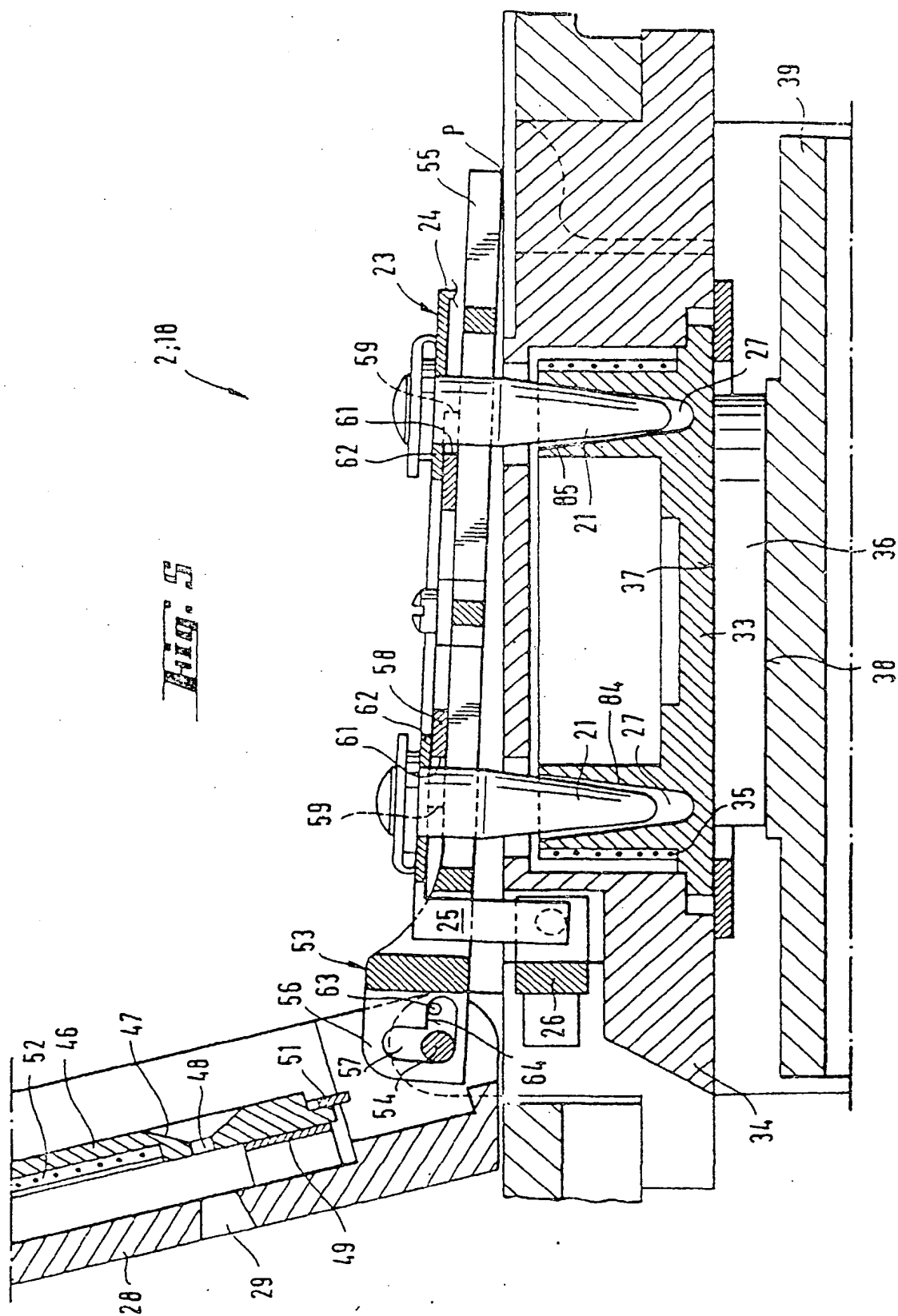


Fig. 6

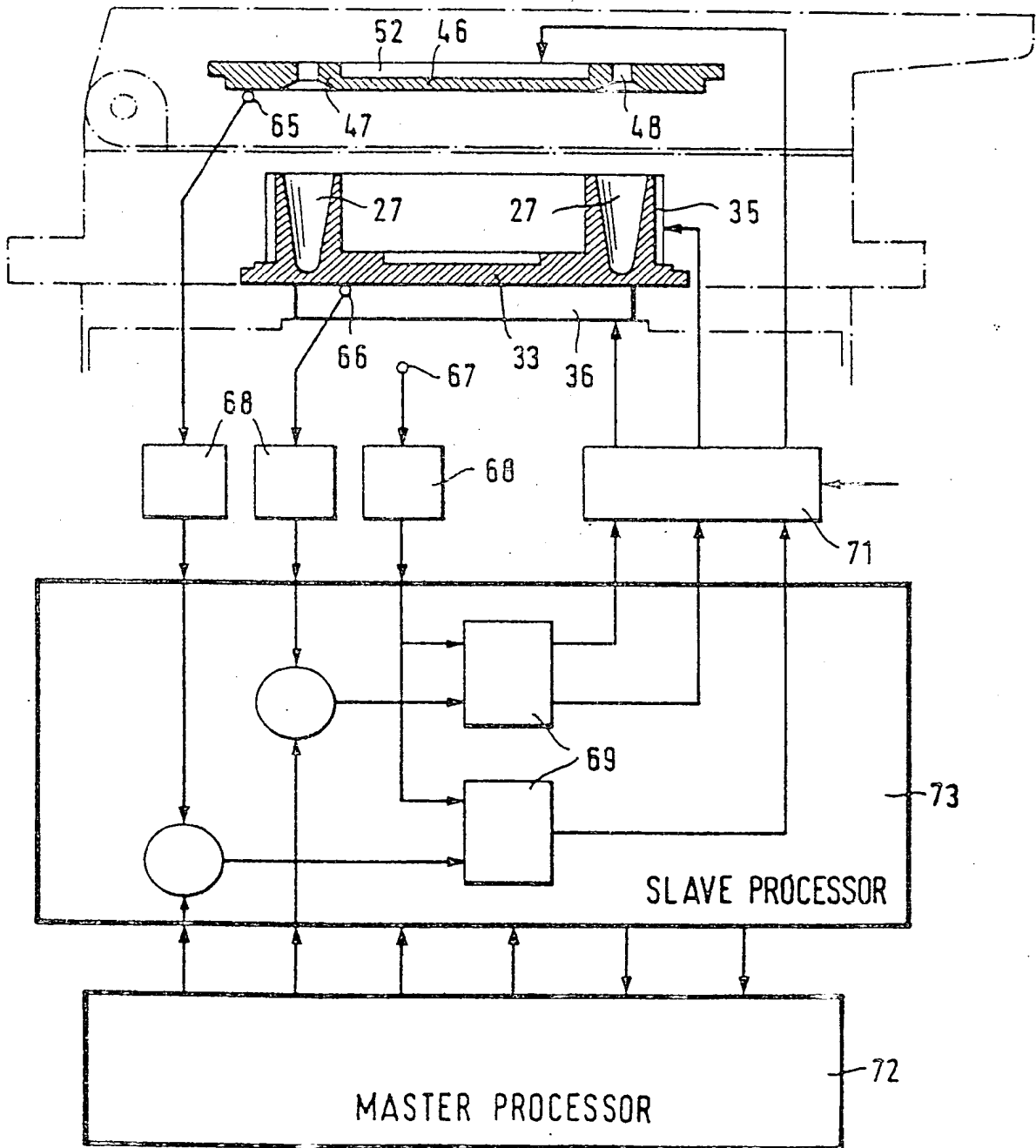
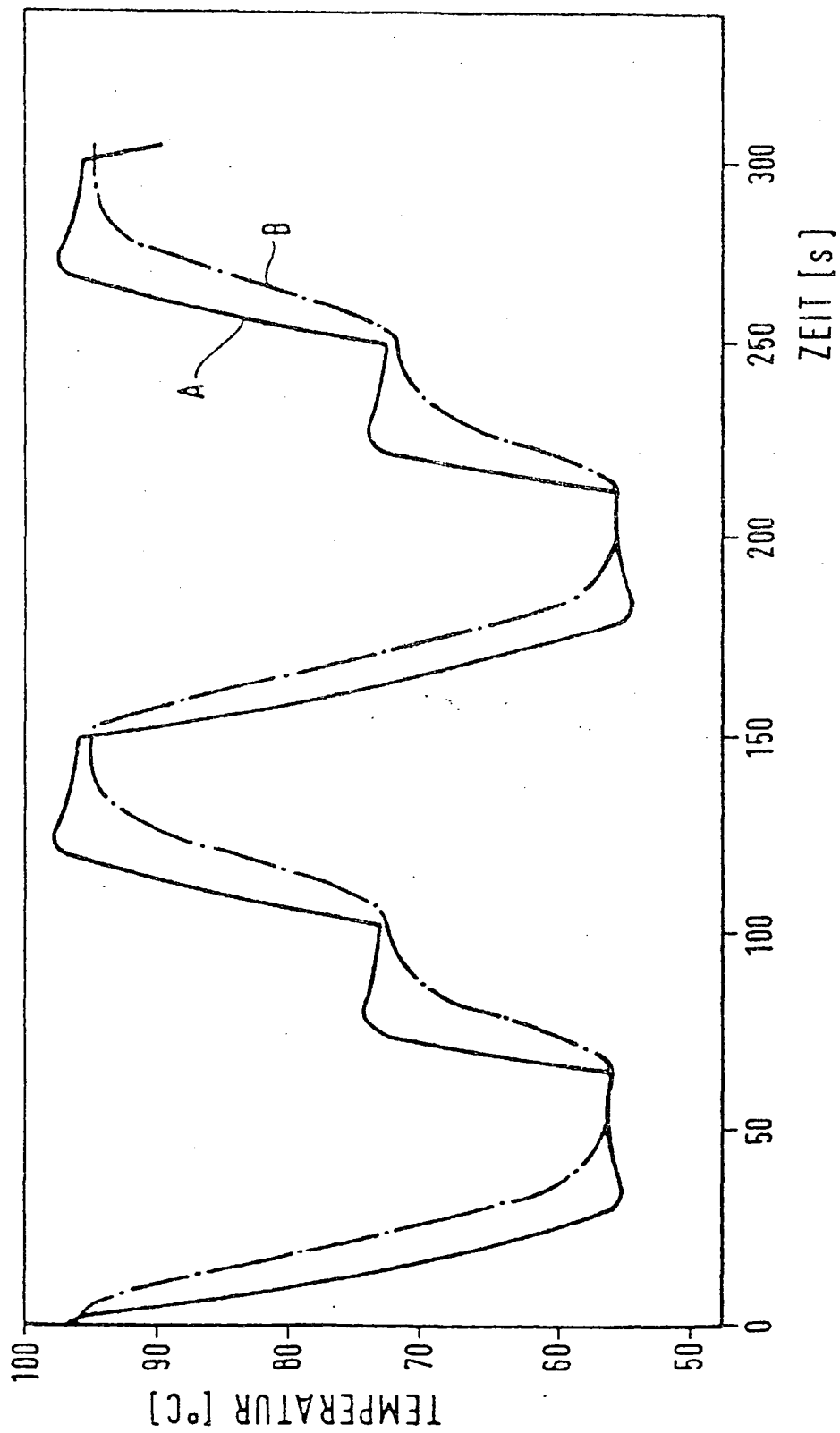


Fig. 2

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 807 467 A3

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(88) Veröffentlichungstag A3:
03.06.1998 Patentblatt 1998/23

(51) Int. Cl.⁶: **B01L 7/00**, B01L 9/06,
C12Q 1/68

(43) Veröffentlichungstag A2:
19.11.1997 Patentblatt 1997/47

(21) Anmeldenummer: 97112702.2

(22) Anmeldetag: 31.08.1994

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL

(30) Priorität: 10.09.1993 CH 2717/93

(62) Dokumentnummer(n) der früheren Anmeldung(en)
nach Art. 76 EPÜ:
94113574.1 / 0 642 831

(71) Anmelder:
F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
4070 Basel (CH)

(72) Erfinder:
• Moser, Rolf
6354 Vitznau (CH)
• Birrer, Lukas
6005 Luzern (CH)

(74) Vertreter:
Ventocilla, Abraham et al
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel (CH)

(54) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen

(57) Vorrichtung zur automatischen Durchführung von Polymerase-Kettenreaktionen in einer Vielzahl von Reaktionsbehältern, wobei jedes Reaktionsbehälter mit einem Deckel verschlossen ist und ein vorbestimmtes Volumen eines flüssigen Reaktionsgemisches enthält, welche Vorrichtung folgende Komponenten enthält:

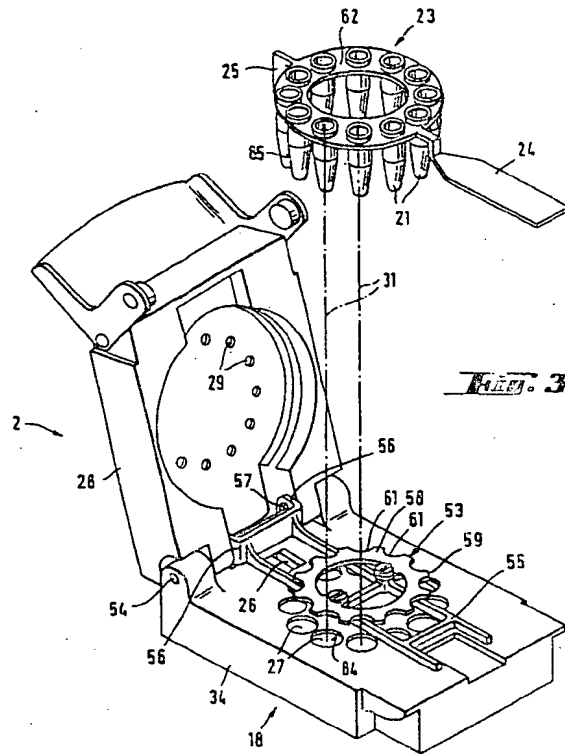
- a) einen Träger (33), der eine Anordnung von Kammern (27) zur Aufnahme der Reaktionsbehälter hat (21), wobei jede Kammer dazu geeignet ist, den unteren Teil eines Reaktionsbehälters aufzunehmen, und wobei der Träger (33) aus einem Material besteht, dass eine hohe thermische Leitfähigkeit hat, und dass er eine obere Fläche, eine untere Fläche und eine zylindrische Aussenwand hat, wobei jede der Kammer (27) des Trägers (33) eine Öffnung hat, die in der oberen Fläche des Trägers liegt,
- b) in den Kammern (27) des Trägers (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21), die je mit einem Deckel (87) verschlossen sind,
- c) eine computergesteuerte Steuer- und Regeleinrichtung, und
- d) durch die Steuer- und Regeleinrichtung gesteuerte Mittel zur zyklischen Aenderung der Temperatur des Trägers.

Zur Erleichterung der Entfernung der Reaktionsbehälter aus den Kammern des Trägers ist die Vorrichtung

dadurch gekennzeichnet, dass

- (i) die Anordnung der Kammer (27) im Träger (33) ringförmig ist,
- (ii) sie einen klappbaren Deckel (28) zum Festhalten der verschlossenen, im Träger (33) angeordneten Reaktionsbehälter (21) enthält, und
- (iii) eine Aushebevorrichtung zur Erleichterung der Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) im Träger (33) enthält, welche Aushebevorrichtung einen Auswurfhebel (55), der an einem Ende mit einem Scharnier des klappbaren Deckels (28) verbunden und am anderen Ende frei ist, und eine Auswurfscheibe (58) enthält, die mit der Rotationssymmetrieachse des Trägers (33) konzentrisch ist, auf dem Auswurfhebel (55) befestigt ist und an der Peripherie eine Anordnung von Ausnehmungen (61) hat, die zur Entnahme der Reaktionsbehälter (21) aus den Kammern (27) dienen.

EP 0 807 467 A3





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 97 11 2702

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.6)
A	EP 0 488 769 A (PERKIN-ELMER CETUS INSTRUMENTS) * Seite 4, Zeile 21 - Seite 5, Zeile 40 * * Seite 7, Zeile 19 - Seite 8, Zeile 55 * * Seite 12, Zeile 1 - Zeile 29 * * Seite 22, Zeile 52 - Seite 24, Zeile 31 * * Seite 27, Zeile 30 - Seite 29, Zeile 35 *	1	B01L7/00 B01L9/06
A	WO 92 20778 A (KINDCONI PTY LTD) * Seite 6, Zeile 2 - Seite 8, Zeile 2; Abbildungen *	1	
A	DE 88 04 938 U (DEUTSCHE METROHM GMBH) * Seite 6, Zeile 35 - Seite 9, Zeile 6 *	1	
A	DE 30 24 210 A (NORDDEUTSCHE SEEKABELWERKE AG) * Seite 5, Zeile 23 - Seite 8, Zeile 10; Abbildung *	1	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.6)
			B01L G01N
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 6. April 1998	
		Prüfer Bindon, C	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
<p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : schriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument S : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>			

EPO FORM 1503 03.92 (P04C03)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.